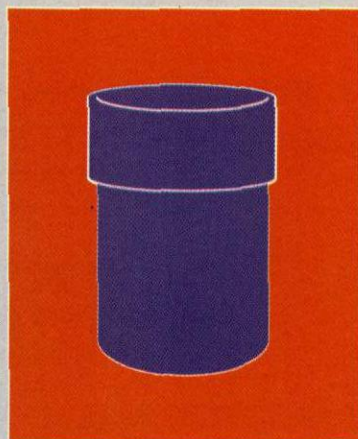


8983
NPGL
001
x. 2
L-08983

ISSN 1517-4816
Novembro, 2001
Circular Técnica 62



Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas



José Renaldi Feitosa Brito

Coleta de amostras de leite

2001

FL-08983



35136-2

embrapa

República Federativa do Brasil

Fernando Henrique Cardoso
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Marcus Vinícius Pratini de Moraes
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Márcio Fortes de Almeida
Presidente

Alberto Duque Portugal
Vice-Presidente

Dietrich Gerhard Quast

José Honório Accarini

Sérgio Fausto

Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Alberto Duque Portugal
Diretor-Presidente

Dante Daniel Giacomelli Scolari

Bonifácio Hideyuki Nakasu

José Roberto Rodrigues Peres
Diretores

Embrapa Gado de Leite

Duarte Vilela
Chefe-Geral

Mário Luiz Martinez
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Matheus Bressan
Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios

Victor Ferreira de Souza
Chefe Adjunto de Administração



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1517-4816

Circular Técnica Nº 62

Novembro, 2001

COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

*José Renaldi Feitosa Brito
Pesquisador da Embrapa Gado de Leite/CNPq*

*Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora – MG*

Embrapa Gado de Leite/ACE. Circular Técnica, 62
Exemplares desta publicação podem ser solicitados a:
Embrapa Gado de Leite
Área de Negócios Tecnológicos – ANT
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco
36038-330 Juiz de Fora, MG
Telefone: (32)3249-4700
Fax: (32)3249-4751
e-mail: sac@cnpgl.embrapa.br
home page: <http://www.cnpgl.embrapa.br>

Tiragem: 1.250 exemplares

COMITÊ LOCAL DE PUBLICAÇÕES

Mário Luiz Martínez (Presidente)

Maria Salete Martins (Secretária)

Carlos Eugênio Martins

Jackson Silva e Oliveira

John Furlong

José Valente

Luiz Carlos Takao Yamaguchi

Margarida Mesquita de Carvalho

Maria Aparecida V. Paiva e Brito

Maria de Fátima Ávila Pires

Marlice Teixeira Ribeiro

Wanderlei Ferreira de Sá

ARTE, COMPOSIÇÃO E DIAGRAMAÇÃO

Angela de Fátima Araújo Oliveira

CAPA

Isabela Picorone de Oliveira (estagiária)

REVISÃO LINGÜÍSTICA

Newton Luís de Almeida

Brito, José Renaldi Feitosa.

Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas/José Renaldi Feitosa Brito. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2001.

16p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 62).

1. Leite. 2. Coleta de amostras. 3. Composição química. 4. Contagem de células somáticas.

ISSN 1517-4816

CDD. 637

© Embrapa, 2001

Apresentação

Este documento foi elaborado com o objetivo de fornecer orientações sobre a coleta de amostras de leite e seu envio ao laboratório para análise. Ele trata dos métodos e do material usado para a coleta, dos cuidados no manuseio, acondicionamento e envio das amostras ao laboratório, além dos requisitos necessários para que os resultados sejam transferidos para o remetente.

Esses cuidados se justificam porque a qualidade das análises conduzidas e, por extensão, dos resultados obtidos, depende fundamentalmente de como as amostras são obtidas, estocadas e conduzidas ao local do exame.

Espera-se que esse documento contribua para a padronização dos procedimentos usados na rotina dos produtores de leite, técnicos de cooperativas e laticínios, extensionistas e demais profissionais da área.

Essa padronização é essencial para que os resultados das análises laboratoriais sejam úteis para os produtores e a indústria como um todo. Com base nesses resultados, decisões podem ser tomadas que afetam toda a cadeia de lácteos, mais especialmente, o produtor de leite.

O autor.

Sumário

Apresentação

1. Introdução	7
2. Recomendações gerais	8
2.1 Responsável pela coleta de amostras	8
2.2 Material e procedimentos recomendados para coleta de amostras de leite	8
3. Procedimentos para coleta de amostras de leite cru	11
3.1 Precauções	11
3.2 Coleta de amostras de leite do tanque de refrigeração	11
3.3 Coleta de amostras de leite de latões	12
3.4 Coleta de leite diretamente do úbere do animal	13
4. Encaminhamento das amostras para o laboratório	14
5. Referências bibliográficas	15

1. INTRODUÇÃO

As análises laboratoriais para determinação dos teores de gordura, lactose, proteína e sólidos totais e para a contagem de células somáticas (CCS) no leite são realizadas em pequenos volumes (amostras), em geral de menos de 100 mL. As amostras devem ser representativas do volume total do leite que se pretende examinar e que pode ser de até 5.000 litros ou mais. Por isso, alguns cuidados devem ser observados.

Além da obrigatoriedade de a amostra ser representativa, existem outros fatores que podem interferir com os resultados das análises. Um deles é a facilidade de contaminação do leite, seguida da multiplicação dos microrganismos em números suficientes para causar sua deterioração em poucas horas ou minutos. A contaminação do leite é propiciada tanto pelas condições inadequadas de obtenção, armazenamento, coleta e transporte, quanto por suas propriedades nutritivas, que são ideais para a multiplicação microbiana.

As amostras de leite devem ser coletadas em recipientes apropriados e limpos e enviadas ao laboratório sob refrigeração, a menos que seja especificada outra temperatura, e no menor espaço de tempo possível. Os procedimentos de coleta e transporte de amostras devem ser padronizados, de acordo com normas aceitas internacionalmente, de modo que os resultados obtidos por diferentes laboratórios possam ser comparados entre si.

A qualidade dos resultados das análises depende dos procedimentos adotados durante a coleta e transporte das amostras, sendo importante observar:

- ♦ capacitação do pessoal responsável pela coleta e transporte das amostras;
- ♦ padronização dos procedimentos;
- ♦ escolha de material para a coleta e transporte das amostras, observando-se, especialmente: o tipo de frasco, o tipo de conservante e as condições de armazenamento das amostras;
- ♦ tempo decorrido entre a coleta e a realização dos exames;
- ♦ fornecimento de informações sobre as amostras e o rebanho de origem.

Este documento trata dos procedimentos recomendados para a coleta e transporte de amostras de leite para determinação dos teores de gordura, lactose, proteína e sólidos totais e a CCS, e tem o objetivo de padronizar

esses procedimentos, de modo a assegurar a qualidade dos serviços prestados pelo laboratório. Para a sua elaboração, foram consultadas, em especial, as seguintes publicações: Marshall (1992) e International Dairy Federation (1995; 1996).

2. RECOMENDAÇÕES GERAIS

2.1 Responsável pela coleta de amostras

A pessoa encarregada de coletar as amostras de leite deve:

- ◆ Receber treinamento e ser capaz de seguir os procedimentos recomendados. A descrição dos procedimentos deve estar disponível, por escrito, de forma visível e de fácil acesso, no local da coleta.
- ◆ Receber informação sobre os riscos inerentes ao manuseio dos conservantes usados ou de qualquer outro produto químico que possa apresentar risco à sua saúde e a dos futuros consumidores do leite.
- ◆ Ser orientada sobre os cuidados higiênicos e sobre os riscos de contaminação do leite em caso de má condução de suas atividades.
- ◆ Dispor de tempo suficiente para proceder à coleta conforme as instruções recebidas, especialmente quanto à homogeneização do leite antes da coleta, mesmo que essa não seja a sua única atividade.

Em algumas circunstâncias, a coleta de amostras poderá ser feita sem aviso prévio, evitando-se, assim que o produtor mude os procedimentos de rotina de ordenha e de armazenamento do leite, o que poderia comprometer a representatividade da amostra.

Sempre que possível, a coleta de amostras deverá ser feita imediatamente antes do recolhimento de leite pelo caminhão-tanque.

2.2 Material e procedimentos recomendados para coleta de amostras de leite

Frascos

Os frascos são, em geral, de plástico, com tampas rosqueáveis ou de pressão. As tampas devem vedar o frasco de maneira segura, para evitar

tanto o vazamento do líquido quanto a contaminação do leite com água, poeira ou qualquer outro produto. Normalmente, os frascos são fornecidos pelo laboratório responsável pelas análises, já com um conservante. Isso facilita e agiliza a rotina do laboratório, pois são usados frascos no tamanho e formato requeridos pelos equipamentos usados. Antes do uso, os frascos devem ser mantidos na embalagem original (geralmente caixa de papelão) e em ambiente seco, escuro e protegido de poeira e outras fontes de contaminação.

Conservantes

Os conservantes são usados para preservar as amostras de leite desde a coleta até o momento da análise no laboratório. Existem vários tipos que podem ser usados desde que não interfiram nos testes físicos ou químicos. Os conservantes são tóxicos e devem ser manuseados com auxílio de luvas de látex (luvas cirúrgicas) e não devem entrar em contato com o leite de consumo. Os frascos usados para a coleta de amostras de leite devem ser abertos somente no momento da coleta, sendo fechados imediatamente após.

Amostras de leite podem ser estocadas sem conservante por até 24 horas após a ordenha, desde que mantidas entre 2 e 6 °C. No caso de amostras coletadas sem conservante serem analisadas antes de 24 horas após a ordenha, é necessário adicionar o conservante e deixá-lo atuar por, no mínimo, três horas antes da análise. Amostras do leite do tanque não devem ser examinadas se o conservante só foi adicionado 48 horas após a coleta.

Os conservantes reconhecidos pela "International Dairy Federation" (Federação Internacional de Laticínios) são:

- ♦ *Ácido bórico*: a concentração final na amostra é de 0,6 g/100 mL; as amostras podem ser mantidas por mais 48 horas, se conservadas entre 6 °C e 12 °C.
- ♦ *Dicromato de potássio*: a concentração final na amostra não deve ultrapassar 0,2 g/100 mL. Esse conservante é normalmente usado na forma de comprimidos com 26,5% de dicromato de potássio. Amostras de leite com dicromato de potássio podem ser mantidas por 72 horas, a temperaturas de 6 a 12 °C.
- ♦ *Bronopol®* (2-bromo-2-nitropropano-1, 3-diol): a concentração final na amostra deve ser entre 0,02 e 0,05%. É usado normalmente na forma de com-

primido com 10 mg de ingrediente ativo ou 0,05 mL (com 20% do ingrediente ativo) para cada 50 mL de leite. No Brasil, Bronopol® tem sido fornecido na forma de comprimido, sendo colocados geralmente dois por frasco, suficientes para aproximadamente 70 mL de leite. As amostras com Bronopol® devem ser mantidas entre 0 °C e 4,4 °C. No caso da análise de gordura, existe a recomendação de se proceder à análise no máximo cinco dias após a coleta.

- ♦ *Azida sódica*: concentração final na amostra não deve exceder 0,024 g/100 mL. As seguintes condições devem ser obedecidas: resfriamento da amostra imediatamente após a coleta e a análise no laboratório deve ser feita dentro de 48 horas.

Além desses conservantes, pode ser usado o formaldeído (40% por volume ou 36% por peso), mas somente em amostras preservadas para o teste de gordura pelos métodos químicos (0,1 mL para cada 30 mL da amostra).

O dicromato de potássio é perigoso tanto para o homem quanto para os animais e peixes, podendo ser fatal se ingerido. Por ser corrosivo, pode causar irritações severas ou queimaduras na pele, devendo-se evitar qualquer contato com os olhos. O leite com dicromato de potássio em contato com a pele pode resultar em dermatite. Deve-se evitar o descarte do dicromato de potássio na rede de esgoto sem o prévio tratamento para inativá-lo (com bicarbonato de sódio, por exemplo). Devido a esses problemas, o dicromato de potássio vem sendo substituído pelo Bronopol®.

No caso da ingestão do dicromato de sódio, recomenda-se:

- ♦ beber bastante leite ou água;
- ♦ não ingerir outras substâncias que causam efeito de neutralização, como o bicarbonato de sódio;
- ♦ procurar um médico imediatamente.

Tempo e conservação da amostra entre a coleta e a análise no laboratório

As amostras de leite devem ser mantidas sob refrigeração, desde a coleta até a entrega no laboratório. Apesar das restrições da IDF/FIL sobre o tempo máximo decorrido entre a coleta de amostras e as análises efetuadas no

laboratório (raramente não mais que três a cinco dias), a maioria dos laboratórios tem usado os prazos de no mínimo um (1) dia após a coleta e no máximo até sete (7) dias. No caso do uso do Bronopol® como conservante, após cinco (5) dias da coleta já se observam alterações na gordura. Dessa forma, o ideal é que as análises sejam realizadas obedecendo ao prazo máximo de cinco (5) dias, dando-se preferência ao exame entre 48 e 72 horas após a coleta.

3. PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE CRU

3.1 Precauções

Os frascos e equipamentos usados para a coleta de amostras devem ser protegidos de contaminação antes e durante o uso.

Quando for usado um coletador de amostra (concha, ou outro modelo), este deve ser mantido limpo e seco. Recomenda-se o uso de coletador de aço inoxidável, com superfície lisa e com todos os cantos arredondados.

O coletador não deve ter contato com materiais ou superfícies contaminadas por moscas, matéria orgânica, poeira etc.

O frasco de amostra deve ser manuseado com cuidado, evitando-se derubar a tampa no chão ou o contato dela ou do interior do frasco com outros materiais ou sujeiras.

3.2 Coleta de amostras de leite do tanque de refrigeração

A coleta de amostra do leite do tanque requer agitação adequada e suficiente, porque o leite da camada superior contém mais bactérias, mais células somáticas e mais gordura do que o leite da parte inferior. Isso se deve à tendência dos glóbulos de gordura subirem para a superfície (são mais leves), atraindo bactérias e células somáticas, resultando na concentração dos três na camada de creme formada. Em estabelecimentos com tanque de resfriamento do leite, recomendam-se, antes de coletar a amostra:

- ♦ Observar se há qualquer anormalidade no leite. Em caso de anormalidade, registrar a ocorrência e interromper a coleta.

- ♦ Medir o volume de leite. Se a régua permanece no interior do tanque, deve-se secá-la ao nível do leite com uma toalha de papel descartável, realizar a medida e anotar o resultado. Se é mantida fora, deve-se lavá-la cuidadosamente antes de introduzi-la no tanque. Depois disso, deve-se secá-la ao nível do leite com uma toalha de papel descartável, realizar a medida e anotar o resultado.
- ♦ Ligar o sistema de agitação do tanque por no mínimo cinco (5) minutos imediatamente antes da coleta da amostra. Quando a capacidade do tanque for mais de 5.700 litros, o tempo de agitação deve ser aumentado para dez (10) minutos, ou de acordo com a recomendação do fabricante. Em qualquer caso, deve-se sempre coletar a amostra com o agitador já parado.
- ♦ Anotar a temperatura do leite.

Coleta da amostra

- ♦ Cuidar para nunca manter o frasco com conservante sobre o leite contido no tanque.
- ♦ Usar um coletador para transferir o leite para o frasco.
- ♦ Nunca ultrapassar $\frac{3}{4}$ do frasco com leite (medida feita considerando-se o frasco tampado). Isso é feito para permitir a mistura do leite com o conservante.
- ♦ Identificar cada frasco com o correspondente código ou nome do produtor.
- ♦ Colocar a amostra de leite imediatamente em uma caixa isotérmica (tipo isopor ou outra), com gelo.
- ♦ Limpar cuidadosamente o coletador.
- ♦ Deixar o frasco em repouso durante cinco (5) minutos e homogeneizar o leite, para que o conservante se distribua uniformemente. O leite deverá adquirir a coloração característica do conservante (amarelado, no caso do dicromato de potássio ou róseo, no caso do Bronopol®).

3.3 Coleta de amostras de leite de latões

Antes da coleta da amostra, deve-se:

- ♦ Agitar o leite de cada latão, usando um agitador manual (agitador de latão) por aproximadamente sete segundos. Para isso, deve-se misturar o leite

das camadas superiores com o das camadas inferiores, pelo menos sete vezes.

- ♦ Observar se há qualquer anormalidade no leite. Em caso de anormalidade, registrar a ocorrência e interromper a coleta.
- ♦ Anotar a temperatura do leite.

Coleta da amostra

- ♦ Manter o frasco com conservante longe da abertura do latão.
- ♦ Usar um coletador (ou um recipiente adequado) para transferir o leite para o frasco.
- ♦ Nunca ultrapassar $\frac{3}{4}$ do frasco com leite (medida feita considerando-se o frasco tampado). Isso é feito para permitir a mistura do leite com o conservante.
- ♦ No caso de existirem vários latões, transferir quantidades de leite proporcionais de cada latão para um outro recipiente e deste retirar o volume necessário para o frasco (por exemplo: se houver dois latões, sendo um cheio e outro pela metade, retirar um litro do primeiro e meio litro do segundo. Homogeneizar e retirar dessa mistura de 1,5 litro o volume necessário para a amostra).
- ♦ Identificar o frasco com o correspondente código ou nome do produtor.
- ♦ Colocar a amostra de leite imediatamente em uma caixa isotérmica (tipo isopor ou outra), com gelo.
- ♦ Limpar cuidadosamente o coletador.
- ♦ Deixar o frasco em repouso durante cinco (5) minutos e homogeneizar o leite, para que o conservante se distribua uniformemente. O leite deverá adquirir a coloração característica do conservante (amarelado, no caso do dicromato de potássio ou róseo, no caso do Bronopol®).

3.4 Coleta de leite diretamente do úbere do animal

Os cuidados para a coleta de amostras de animais devem ser os mesmos seguidos para a coleta do leite total do rebanho, em relação à representatividade da amostra, uso de frascos e conservantes apropriados, registro de dados, identificação da amostra, conservação e transporte.

No caso de rebanhos submetidos a controle leiteiro, normalmente a coleta é feita a partir de uma amostra da produção diária de leite de cada animal, sendo esse o procedimento ideal. Essa coleta é geralmente feita por um funcionário (controlador) da associação da raça. É necessário homogeneizar o leite ao final de cada ordenha. Quando o sistema adotado for de duas orde-

nhas diárias, deve-se coletar, no mesmo frasco, dois terços (2/3) na ordenha da manhã e um terço (1/3) na ordenha da tarde. No caso de três ordenhas, coleta-se um terço a cada ordenha.

No caso de ordenha manual, a homogeneização deve ser feita com ajuda de um outro recipiente (tipo balde), vertendo-se o conteúdo de um recipiente no outro sete (7) vezes pelo menos, para garantir a mistura adequada do leite produzido.

Quanto à ordenha mecânica, há casos em que existe um coletador automático que retira a amostra de forma homogênea. Deve-se realizar a coleta após homogeneização dessa amostra por aproximadamente cinco (5) segundos. Quando o leite é armazenado em balões volumétricos, deve-se retirar o volume necessário de leite do balão após a homogeneização por sete (7) a dez (10) segundos. Quando o equipamento é do tipo “balde ao pé”, a homogeneização deve ser feita com ajuda de um outro recipiente (tipo balde), vertendo-se o conteúdo de um recipiente no outro sete (7) vezes pelo menos, para garantir a mistura adequada do leite.

Nos demais casos e dependendo do manejo adotado na fazenda ou de como o leite de cada animal é misturado com o dos demais durante a ordenha, pode ser difícil separar a produção de cada animal para coletar a amostra. Nesse caso, é recomendado:

- ♦ obter a amostra de leite da ordenha total (pela manhã, por exemplo), ou
- ♦ obter a amostra no início da ordenha (após a eliminação dos primeiros jatos de leite).

Essa fração do leite representa razoavelmente o volume total do leite do animal. O mesmo não acontece com amostras de leite obtidas ao final ou no meio da ordenha.

4. ENCAMINHAMENTO DAS AMOSTRAS PARA O LABORATÓRIO

Todas as amostras encaminhadas ao laboratório devem ser acompanhadas de uma ficha com os seguintes dados:

- ♦ identificação do rebanho e endereço para envio dos resultados;
- ♦ data e horário da coleta;
- ♦ tipo de amostra enviada (se de latão, do tanque ou de animais individuais);
- ♦ temperatura da amostra no momento da coleta;
- ♦ local da amostragem;
- ♦ nome ou identificação da pessoa encarregada pela amostragem.

Esses dados podem ser encaminhados em fichas, como o modelo anexo. Os frascos devem ser numerados seqüencialmente, usando-se uma tinta solúvel em álcool (do tipo recomendado para retroprojeto), devendo-se evitar as do tipo nanquim, porque normalmente os tubos são reutilizados e as marcas precisam ser retiradas.

Além da numeração dos frascos, deve ser incluída a identificação por nome ou código (do animal ou do produtor). Os dados complementares (identificação, endereço, data da coleta etc.) são importantes para a identificação no laboratório da origem das amostras, bem como para garantir o retorno dos resultados de maneira rápida e confiável. O laboratório pode emitir relatórios de acordo com as necessidades do cliente, sendo necessário para tanto discutir previamente a forma, os prazos e outros detalhes que se façam necessários.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk. Enumeration of somatic cells. Bruxelas: 1995. 8p. (IDF Standard 148 A)

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content. Guide for the operation of mid-infra-red instruments. Bruxelas: 1996. 12p. (IDF Standard 141 B).

MARSHALL, R. T. ed. Standard methods for the examination of dairy products. 16 ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 547 p.

ANEXO I

LABORATÓRIO DE QUALIDADE DO LEITE "PROF. JOSÉ DE ALENCAR"

Solicitante:	Data da coleta:
Propriedade:	Data da análise:
Endereço:	
Código do rebanho/indústria:	Telefone/fax:
e-mail:	Temperatura do leite: °C

Nº do frasco	Identificação da amostra	Nº do frasco	Identificação da amostra

A identificação da amostra pode ser o código/nome de produtor (para cooperativas) ou o número/nome do animal (para fazendas).

Embrapa Gado de Leite

Laboratório de Qualidade do Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco
36038330 – Juiz de Fora – MG
Tel.: (32)3249-4826 e 3249-4884 – Fax: 3249-4821
e-mail: jrfbrito@cnpql.embrapa.br



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco
Fone: (32)3249-4700 - Fax: (32)3249-4751
Juiz de Fora - MG - CEP: 36038-330
Home page: <http://www.cnpagl.embrapa.br>
e-mail: sac@cnpagl.embrapa.br*

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

**GOVERNO
FEDERAL**
Trabalhando em todo o Brasil